

**ТОМАРОВСКИЙ АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ПОСЛЕДСТВИЯ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И  
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ В РОДЕ *MARTES*  
(СЕМ. MUSTELIDAE)**

1.5.7 – Генетика  
(биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2026

Работа выполнена в лаборатории разнообразия и эволюции геномов Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск, и на кафедре цитологии и генетики Факультета естественных наук Новосибирского государственного университета, г. Новосибирск

Научный руководитель: **Графодатский Александр Сергеевич**  
доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, профессор, главный научный сотрудник Лаборатории разнообразия и эволюции геномов Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

Официальные оппоненты: **Лухтанов Владимир Александрович**  
доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник Отделения кариосистематики Лаборатории систематики насекомых Зоологического института РАН, г. Санкт-Петербург

**Нуриддинов Мирослав Абдурахимович**  
кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории геномных технологий для медицинской генетики Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова”

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г. на утреннем заседании Диссертационного совета 24.1.239.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН» в конференц-зале Института по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект ак. Лаврентьева, 10, т. (383)363-49-06, факс (383) 333-12-78, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института <https://www.icgbio.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Семейство куньих (сем. Mustelidae) – одно из наиболее богатых видами семейств млекопитающих из отряда хищных (отр. Carnivora), представители которого встречаются практически повсеместно, за исключением Антарктиды и ряда островов. В настоящее время семейство включает по разным оценкам 60-70 видов, относящихся к 22-24 родам (Wilson and Reeder 2005). Куньи в значительной степени различаются между собой поведенчески и фенотипически, а также обладают специфическими адаптациями к окружающей среде обитания (Koenfli et al. 2008). Несмотря на интересные биологические особенности животных этой группы, к которым можно отнести эмбриональную диапаузу, многие виды куньих остаются недостаточно изученными с точки зрения генетики, популяционной геномики и эволюционной биологии, вследствие малочисленных или полностью отсутствующих полногеномных данных для особей из различных популяций.

Представители рода *Martes* распространены в Европе, Азии и Северной Америке. Большинство животных этой группы характеризуется высоким качеством меха в связи с приспособленностью к жизни при низких температурах в тайге, хвойных и лиственных лесах Северного полушария. Первые исследования по изучению филогении были основаны на фенотипических, морфологических и физиологических признаках, в связи с чем таксономия рода подвергалась многочисленным пересмотрам (Юргенсон 1933; Wozencraft 2005; Nascimento 2014). В более поздних исследованиях филогеографии популяций и филогении видов куньих применялись молекулярно-генетические подходы, основанные как на использовании ядерных и митохондриальных генетических маркеров, так и на полных последовательностях мтДНК (Sato et al. 2004; Fulton and Strobeck 2006; Koenfli et al. 2008; Yu et al. 2011; Law et al. 2018; Hassanin et al. 2021). Последняя масштабная ревизия филогении рода *Martes* включает выделение ильки (*M. pennanti*) в отдельный род *Pekania* (Samuels and Cavin 2013), а также разделение американской куницы (*M. americana*) на два вида – *M. americana* и *M. caurina*, между которыми происходит активная гибридизация в зоне симпатрии (Colella et al. 2018). Однако, несмотря на множество проведенных исследований, до сих пор остаются нерешенными некоторые проблемы, связанные с систематикой видов в роде *Martes*.

На сегодняшний день нет единого мнения о систематическом положении харзы (*M. flavigula*), которая занесена в Красную книгу МСОП (Международного Союза Охраны Природы) как вид, вызывающий наименьшее опасение (Chutipong et al. 2016). В России харза встречается

редко, так как на территорию нашей страны приходится самый север ее ареала (Abramov et al. 2006) и в последние годы рассматривается как угрожаемый вид (Юдин 2022). В настоящее время харза без сомнений занимает базальное положение в филогении рода *Martes* (Law et al. 2018; Hassanin et al. 2021), поскольку фенотипически сильно отличается от других представителей рода (Юдин В.Г. и Юдина Е.В. 2022). В этой связи в исследовании по таксономии харзы 1995 года В.В. Рожнов предложил выделить этот вид в отдельный род *Lamprogale*, а также поднимает вопрос о необходимости выделений популяций из юговосточной окраины Азии в отдельный вид *L. lasiotis*, на основе морфологических данных и разобщенности ареала (Рожнов 1995). Ранее Е.Н. Матюшкин в работе 1993 года также подчеркивает сложность таксономической структуры харзы, предполагая выделение в отдельный род *Charronia* и обосновывая подразделение харзы как минимум на два вида: *Ch. aterrima* и *Ch. flavigula* (Matyuschkin E.N. 1993). Позднее проводились направленные исследования филогении харзы с использованием митохондриальных маркеров (Hosoda et al. 2000; Li et al. 2014) и полной последовательности мтДНК (Hassanin et al. 2021; Kim and Jo 2024), однако отсутствие полногеномных данных до настоящего времени не позволяло точно определить систематическое положение харзы и поставить точку в этом вопросе.

Другим примером, указывающим на недостаточную изученность, являются самостоятельные виды соболь (*M. zibellina*) и лесная куница (*M. martes*). В зоне симпатрии этих ценных пушных видов на северном Урале и западной Сибири встречаются гибридные особи (кидасы) с промежуточными фенотипическими признаками родительских видов (Юргенсон 1947; Павлинин 1963). С середины XX века проводились исследования с целью доказать гибридное происхождение кидасов и выявить их отличительные особенности от родительских особей. В результате была установлена частичная плодовитость кидасов и возможность возвратных скрещиваний (Портнова 1941; Граков 1974; Граков 1976; Граков 1981). Тем не менее, все еще существовали обоснованные сомнения и неопределенность касательно гибридного статуса кидасов в естественных условиях (Павлинин 1963). Позднее, гибридное происхождение кидасов в зоне симпатрии было подтверждено с использованием молекулярно-генетических подходов на основе маркеров мтДНК и сателлитных локусов яДНК (Рожнов et al. 2010; Пищулина 2013; Рожнов et al. 2013). В ходе проведенных исследований не удалось в полной мере оценить интенсивность и направление процесса гибридизации, что возможно лишь с использованием качественных полногеномных данных секвенирования большого количества образцов.

Стоит отметить, что у соболя, обитающего в основном на территории России, остается неизвестным уровень генетического разнообразия на полногеномном уровне. Оценка уровня гетерозиготности особей из разных популяций может показать последствия реинтродукции соболя, проводимой в XX веке в СССР (Насимович and Тимофеев 1973; Павлов et al. 1973), что впоследствии может способствовать пересмотру нынешнего глобального статуса вида в МСОП. Уровень генетического разнообразия куницы также требует рассмотрения, в связи с расширением, а затем с уменьшением ареала этого вида на востоке Западной Сибири (Граков 1981). Дополнительно для изучения эволюции структуры генома важно рассмотреть каменную куницу (*M. foina*), для которой уже опубликованы сравнительные хромосомные карты на основании флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) (Graphodatsky et al. 2020). К настоящему времени с помощью набора зондов *M. foina* были изучены кариотипы 12 видов куньих (Hameister et al. 1997; Cavagna et al. 2000; Nie et al. 2002; Graphodatsky et al. 2020). Наконец, важно рассмотреть северо-американских куниц – американскую куницу (*M. americana*) и тихоокеанскую куницу (*M. caurina*), охватив тем самым большую часть рода *Martes*.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования является оценка уровня генетического разнообразия изучаемых видов, включая межвидовых гибридов, и проведение филогенетического анализа рода *Martes* на полногеномном уровне. Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи:

1. Оценка качества и фильтрация как полученных в ходе исследования, так и общедоступных полногеномных данных рода *Martes*.
2. Получение и оценка качества референсных геномных сборок хромосомного уровня 4 видов рода *Martes*. Предсказание и аннотация белок-кодирующих генов и повторов в полученных сборках.
3. Поиск и анализ хромосомных перестроек между геномами 4 видов рода *Martes*.
4. Оценка генетического разнообразия исследуемых видов рода *Martes* (включая межвидовых гибридов), и сравнение с другими видами куньих.
5. Поиск интрогрессии, анализ происхождения и классификация образцов по видовой принадлежности с использованием полногеномных данных, STR-маркеров и полных мтДНК.
6. Анализ популяционной истории исследуемых видов рода *Martes*.
7. Филогенетический анализ рода *Martes* на основе полногеномных данных.

**Научная новизна.** Впервые получены геномные сборки хромосомного уровня *M. foina*, *M. zibellina*, *M. martes* и *M. (Ch.) flavigula*; на момент их публикации (DNA Zoo, 2021) это были первые сборки данных видов. Сборка *M. zibellina* до сих пор остается единственной хромосомного уровня, а сборка *M. foina* получена из той же клеточной культуры, что использовалась в ключевых цитогенетических исследованиях Carnivora. Впервые проведен полногеномный анализ генетического разнообразия *M. martes* и *M. zibellina* в контексте их гибридизации, выявлены мозаичные рекомбинантные хромосомы у гибридов, что свидетельствует о неподавленном кроссинговере и ограничениях STR-типирования для их изучения. Показан высокий уровень гетерозиготности современных *M. zibellina*, отражающий успех программ реинтродукции в XX веке, и низкая гетерозиготность *M. martes*, связанная с древней популяционной историей вида. Впервые на полногеномных данных решен вопрос систематического положения харзы: обосновано ее выделение в род *Charronia* (*Ch. aterrima*, *Ch. flavigula*, *Ch. gwatkinsii*). Для *M. foina* выявлены значительные различия между европейской и азиатской частью ареала, а в комплексе *M. martes*, *M. zibellina* и американских куниц (*M. caurina*, *M. americana*) выявлены противоречия между ядерным и митохондриальными деревьями.

**Теоретическая и научно-практическая значимость исследования.** Полученные геномные сборки послужат основой дальнейших исследований в области сравнительной геномики рода *Martes*. Выявленные особенности гибридных геномов, включая мозаичные рекомбинантные хромосомы с неподавленным кроссинговером, расширяют представления о механизмах гибридизации и демонстрируют ограничения подходов низкого разрешения. Анализ полногеномных данных *M. zibellina* позволил впервые сделать вывод об успешности одной из самых масштабных программ реинтродукции середины XX века с точки зрения современного генетического разнообразия. Разрешение филогенетического положения харзы и ее выделение в отдельный род *Charronia* сужает ареал дальневосточного подвида (*Ch. aterrima*) и требует пересмотра природоохранных мер и усиления мониторинга на территории России. Разработанная концепция анализа компонент гетерозиготности предлагает новый подход к идентификации гибридного происхождения образцов при недостатке данных по чистым видам и может быть использована в будущих исследованиях по геномике гибридизации.

**Научные положения, выносимые на защиту:**

1. Взаимные интрогрессии между ядерными геномами соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) в удаленных от зоны симпатрии

регионах указывают на необходимость пересмотра границ ареалов исследуемых видов с возможным расширением зоны симпатрии.

2. Мультимодальное распределение гетерозиготности в геномах особей комплекса *M. zibellina* × *M. martes* является следствием гибридизации видов с различным уровнем гетерозиготности – высокой у *M. zibellina* и низкой у *M. martes*, а также исторических событий.
3. Ревизия филогении рода *Martes* на основе полногеномных данных позволяет выделить харзу (*M. flavigula*) в отдельный род *Charronia*, включающий как минимум три вида – *Ch. aterrima*, *Ch. flavigula* и *Ch. gwatkinsii*.

**Личный вклад автора.** Дизайн работы, биоинформатической обработки и анализа данных, визуализация и интерпретация полученных результатов были выполнены при непосредственном участии автора. Автором лично проведена биоинформатическая обработка данных на вычислительном кластере. Все публикации по теме диссертационной работы подготовлены при непосредственном участии автора.

**Апробация работы.** Материал диссертации представлен в 5 публикациях в научных рецензируемых журналах, входящих в международные базы цитирования (Scopus, Web of Science и/или РИНЦ) и отвечающих требованиям Высшей Аттестационной Комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации. Работа была представлена на 3 международных конференциях. Результаты диссертационного исследования ежегодно заслушивались на заседаниях кафедры ЦиГ ФЕН НГУ в период прохождения аспирантуры в 2021-2025 гг. Апробация диссертационной работы проведена на совмещенном межлабораторном семинаре ИМКБ СО РАН и кафедры ЦиГ ФЕН НГУ, протокол №3 от 25 августа 2025 года.

**Структура и объем работы диссертации.** Диссертация включает введение, обзор литературы, описание используемых материалов и методов исследования, полученные результаты и их обсуждение, выводы, список цитируемой литературы (476 ссылок) и приложение. Работа изложена на 186 страницах, содержит 39 иллюстраций и 13 таблиц (без учета приложения).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Создание клеточных культур, выделение ДНК и подготовку библиотек выполнили сотрудницы ИМКБ СО РАН. Клеточные линии для полногеномного секвенирования предоставлены УНУ “Криобанк культур клеток” ИМКБ, Новосибирск. Для *de novo* сборок геномов каменной куницы, лесной куницы, соболя и харзы получены сцепленные прочтения 10X Genomics и данные Hi-C секвенирования. Ресеквенировано 6 образцов лесной куницы и 12 соболей из различных частей ареала, а также 12 их

предполагаемых гибридов из зоны симпатрии. Секвенирование выполнено на платформе Illumina Novaseq 6000 (прочтения 150 п.н.). Дополнительно в анализ включены опубликованные полногеномные данные тихоокеанских куниц (4 образца) и американских куниц (1 образец), а также китайского подвида соболя (1 образец). Все полученные в ходе работы данные опубликованы в базе NCBI, BioProject PRJNA1102534.

Качество прочтений оценивалось с помощью FastQC и KrATER. Фильтрация включала удаление адаптеров (Cookiecutter) и обрезку низкокачественных участков (Trimmomatic). Оценка размера генома выполнена с помощью GenomeScore. Геномные сборки хромосомного уровня получены с использованием Supernova, Juicer, 3D-DNA и Juicebox Assembly Tools. Для удаления гаплотипических дубликатов использован `purge_dups`. Качество сборок оценивалось с помощью BUSCO (Mammalia\_odb10). Поиск повторов выполнен с помощью TRF, WindowMasker и RepeatMasker (база повторов хищных, Dfam 3.7). Модели генов предсказаны конвейером BRAKER с использованием опубликованных данных РНК-секвенирования видов *Martes* и базы ортологов OrthoDB. Аннотация выполнена с помощью eggNOG-mapper (база EggNOG v5.0). Множественное полногеномное выравнивание геномов выполнено при помощи Progressive Cactus. Синтенные блоки извлекались при помощи halSynteny.

Сопоставимое покрытие достигнуто при помощи Bbmap. Выравнивание прочтений выполнено с помощью BWA и Samtools. Покрытие подсчитано с помощью Mosdepth. Координаты псевдоаутосомного района (PAR) определены на основании медианного покрытия в окнах 10 тыс п.н. Поиск SNP проведен с помощью Bcftools. Маскирование выполнено с использованием Bedtools. Количество SNP подсчитано в окнах 1 млн п.н. с шагом в 100 тыс п.н. Протяженные участки гомозиготности (RoH) выявлены в окнах 100 тыс п.н. с шагом 10 тыс п.н. Участки классифицированы как короткие (<1 млн п.н.), длинные ( $\geq 1$  млн п.н.) и ультрадлинные ( $\geq 10$  млн п.н.). Распределения гетерозиготных SNP аппроксимированы линейной комбинацией отрицательных биномиальных распределений (пакет `mixdist`). Классификация образцов по видовой принадлежности выполнена с помощью ADMIXTURE, PLINK, AdmixTools и HyDe. Локальный ADMIXTURE-анализ выполнен в окнах 1 млн п.н. с шагом 100 тыс п.н. Генотипирование STR-локусов проведено с помощью hipSTR, с последующим анализом происхождения с помощью STRUCTURE.

Филогеномный анализ выполнен методом максимального правдоподобия (IQ-Tree), байесовским подходом (MrBayes) и коалесцентным подходом (ASTRAL-III). В анализ включены 22 вида сем. Mustelidae и сем.

Canidae (аутгруппа). Сборка мтДНК выполнена с помощью MitoZ. На основе полных мтДНК построено филогенетическое дерево (IQ-Tree) и сеть гаплотипов (PopArt). Генетические расстояния рассчитаны на основе ядерных и митохондриальных геномов с помощью RapidNJ после выравнивания (MAFFT) и фильтрации (TrimAl). Реконструкция исторической динамики эффективного размера численности популяции ( $N_e$ ) выполнена с помощью PSMC. Масштабирование выполнено с частотой замен на поколение равной  $4.64 \times 10^{-9}$  и времени генерации в 5 лет.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Контроль качества и оценка размера генома

Контроль качества полногеномных прочтений не выявил признаков контаминации. Для 11 образцов соболей, лесных куниц и их предполагаемых гибридов обнаружен дополнительный пик на половинном покрытии 23-меров (наиболее выражен у образца T87). Оцененные размеры геномов референсных образцов, полученные на основании распределения 23-меров, согласуются с размерами полученных геномных сборок.

### Сборка и аннотация геномов

Получены геномные сборки хромосомного уровня для соболя, лесной куницы, каменной куницы и харзы. Сборки геномов характеризуются значениями N50 от 137,4 млн п.н. (у харзы) до 144,6 млн п.н. (у лесной куницы). Значение N50 обусловлено длиной хромосомных скаффолдов, количество которых соответствует кариотипу ( $2n=38$  у *M. zibellina*, *M. martes*, *M. foina*;  $2n=40$  у *M. flavigula*). Результаты BUSCO показали полноту более 95% однокопийных консервативных ортологов у всехборок. Аннотация выявила от 20087 (*M. foina*) до 20521 (*M. flavigula*) моделей генов, из которых для >90% успешно присвоены имена.

### Аннотация повторов и покрытие

Доля повторяющихся элементов составила от 39,07 до 39,70%, большинство из которых (36,19% - 36,86%) относятся к группе ретроэлементов. Профили Кимуры показали схожую динамику эволюции повторов у исследуемых видов. Покрытие всех образцов было нормализовано до 22х. Выявлены различия в покрытии при выравнивании противборок соболя и лесной куницы, что обусловило необходимость проведения анализов относительно каждого из видов ("эффект референса"). Пол всех образцов подтвержден по покрытию X-хромосомы. Ранее опубликованный образец "china" (Liu et al. 2020) оказался самкой. Длина PAR составляет ~6,5 млн п.н. с незначительной вариацией между видами.

### Синтения и хромосомные перестройки

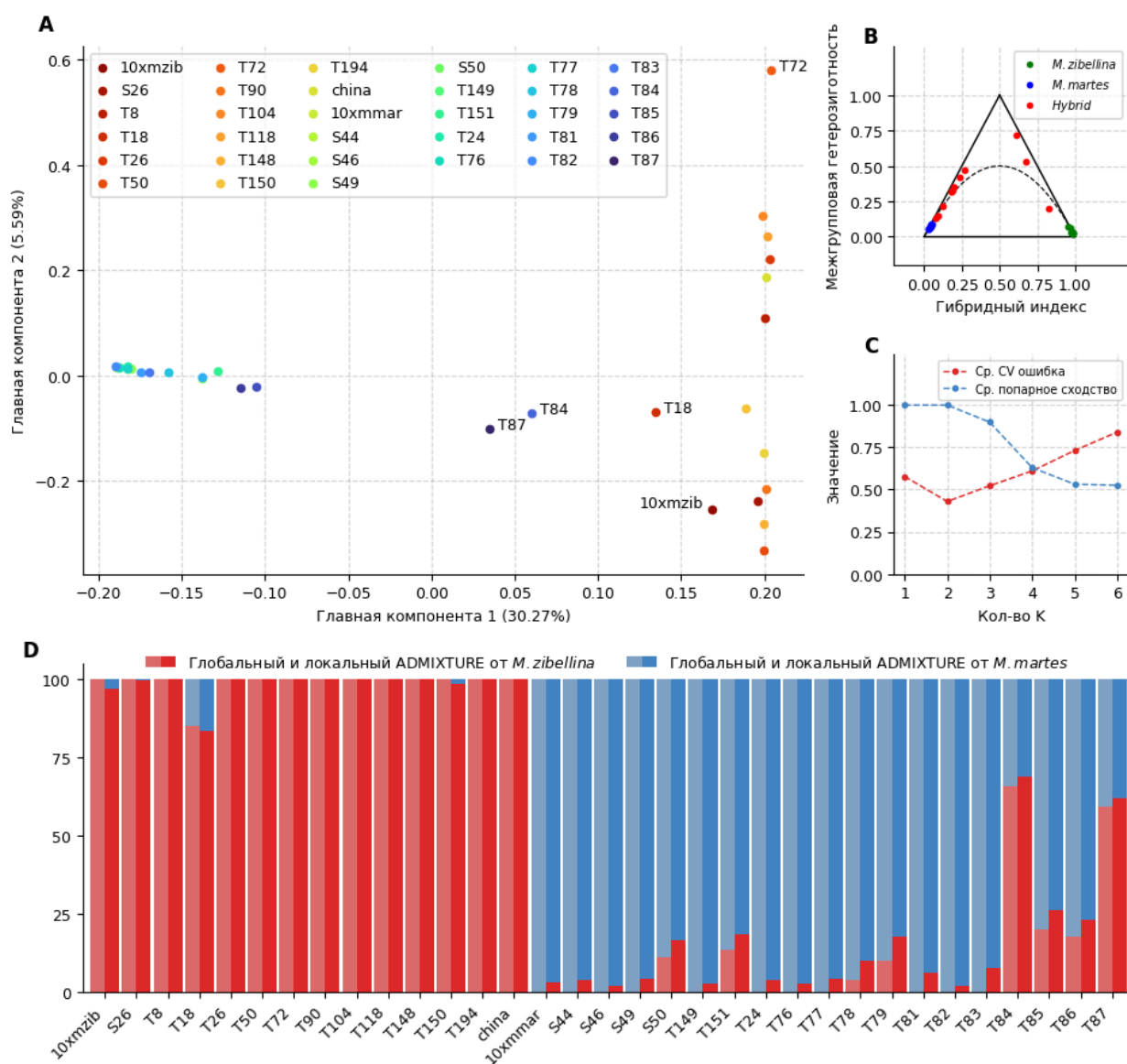
Анализ синтении каменной куницы с геномами человека, собаки и кошки согласуется с опубликованными картами сравнительного хромосомного окрашивания Zoo-FISH. Удалось выявить ранее не описанные синтенные блоки (до 9,7 млн п.н.). Анализ синтении исследуемых Евразийских видов *Martes* (Рисунок 1) позволил выявить 4 видоспецифичных инверсии, размер которых находится на пределе возможностей цитогенетических методов. Парацентрическая инверсия между соболем и лесной куницей на 11-ой хромосоме практически полностью охватывает р-плечо и была подтверждена сравнением G-banding этих видов. Внутри этой инверсии обнаружены гены, связанные с фертильностью (*SPMIP7*, *ZPBP*) и развитием скелета (*GLI3*).

#### **Анализ гетерозиготности**

В ходе анализа распределений гетерозиготных SNP выявлена характерная мультимодальность уровня гетерозиготности. В ходе аппроксимации линейной комбинации отрицательных биномиальных распределений удалось выделить 4 компонента гетерозиготности: для лесных куниц (0,7 SNP/тыс п.н.), соболей (1,7 SNP/тыс п.н.) и их гибридов (4,5 SNP/тыс п.н.), а также RoH (0 SNP/тыс п.н.). У общедоступных образцов *M. caurina* материковые особи (0,49-0,58 SNP/тыс п.н.) характеризуются более высокой гетерозиготностью по сравнению с островными (0,02-0,11 SNP/тыс п.н.).

#### **Классификация по видовой принадлежности**

В результате PCA образцы сформировали 2 кластера (Рисунок 1A). Последующий анализ происхождения выявил интрогрессию более 5% в 11 образцах, 3 из которых изначально относились к “чистым” видам (Рисунок 1D). Среди них: образец, близкий к поколению F1 (T87), шесть – backcross-подобных (интрогрессия 15-35%) и четыре – “нетипичных” (5-15%). Из рассмотренных 12 образцов предполагаемых гибридов подтвержденными оказались только 8 из них. Среди образцов лесных куниц нет ни одной особи без интрогрессии. Применение STR-маркеров для классификации по видовой принадлежности показало значительное расхождение с результатами на основании полногеномных данных, в основном в виде недооцененной интрогрессии. Результаты сильно зависят от набора STR-маркеров, что хорошо видно на примере образца T84, вариация доли лесной куницы в котором составляет чуть более 30%.



**Рисунок 1.** Кластеризация и смешение проанализированных образцов соболя, лесной куницы и предполагаемых гибридов. А – PCA. В – Треугольная диаграмма зависимости индекса гибридизации (ось X) и гетерозиготности (ось Y). Гибридные образцы отмечены красным, лесные куницы – синим, а соболя – зеленым; С – Средние значения ошибки перекрестной валидации (CV) (синий) и среднего парного сходства (красный) на основе глобальной ADMIXTURE; D – Глобальный ADMIXTURE (слева) и локальный ADMIXTURE (справа).

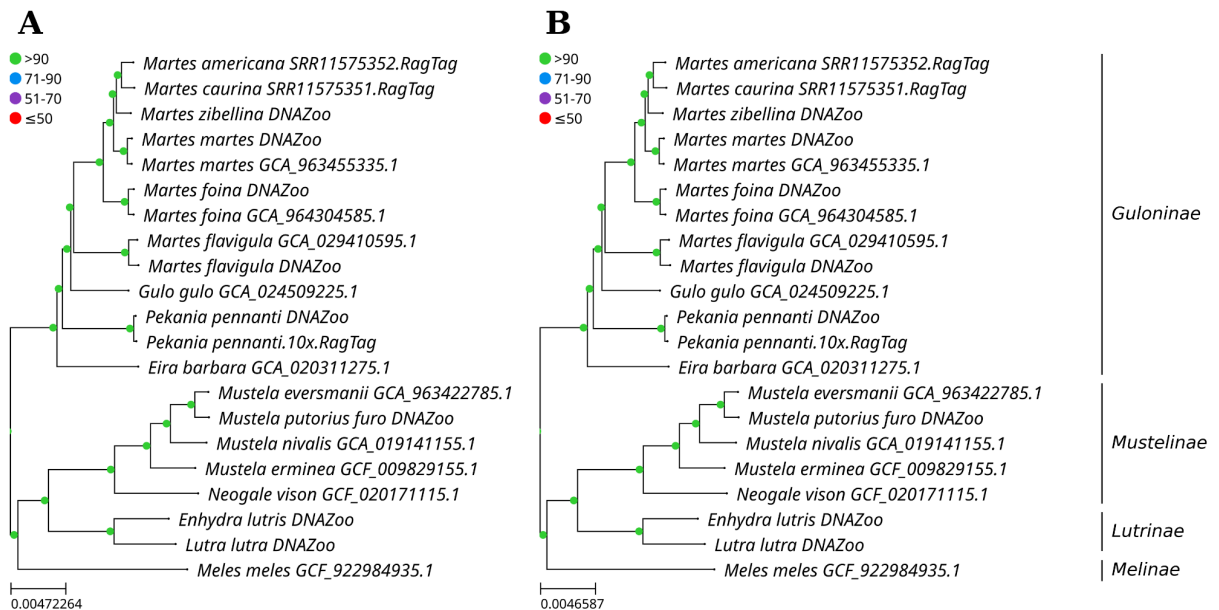
### Анализ участков гомозиготности

Анализ RoH показал различия в их кумулятивном распределении и доле генома среди соболей, лесных куниц и гибридов. Соболя характеризуются наиболее протяженными RoH (от 17,6% (T72) до 30,5% (10xmzib) генома). Камчатский соболь (T72) выделяется наибольшим числом коротких RoH (9,3%) и наименьшей долей длинных (6,1%) и ультра-длинных RoH (2,2%). У лесных куниц участки RoH характеризуются меньшей

протяженностью по сравнению с соболями. Гибриды отличаются меньшей долей генома в RoH в сравнении с родительскими видами. Среди образцов *M. caurina* выражены различия между островными (77,9% и 99,4%) и материковыми особями (19,6% и 23,5%). Среди оставшихся видов наибольший уровень гомозиготности у харзы (55,1%) и каменной куницы (51,7%), тогда как у американской куницы – низкий (13,1%).

### Филогения рода *Martes*

На основе 6535 общих ортологичных генов построены филогенетические деревья (Рисунок 2). Узел с харзами поддерживает лишь 31,19% проанализированных генных деревьев, чего впрочем достаточно для уверенной поддержки топологии (апостериорная вероятность 100%). Это свидетельствует об активном видообразовании вблизи общего предка Guloninae, вероятно сопровождающемся гибридизацией и/или неполной сортировкой линий. Полученная на основании мтДНК топология видов противоречит топологии по данным яДНК, в случае которой *M. zibellina* является базальным таксоном по отношению к *M. americana* и *M. caurina*, тогда как на митохондриальном дереве базальной группой к *M. zibellina*, *M. martes* и *M. melampus* являются североамериканские куницы.



**Рисунок 2.** Реконструкция филогенетических деревьев на основе полногеномных данных. А – дерево построенное методом максимального правдоподобия. В – методом байесовского вывода. Используемая в качестве аутгруппы сборка волка *Canis lupus* (GCA\_905319855.2) удалена с дерева.

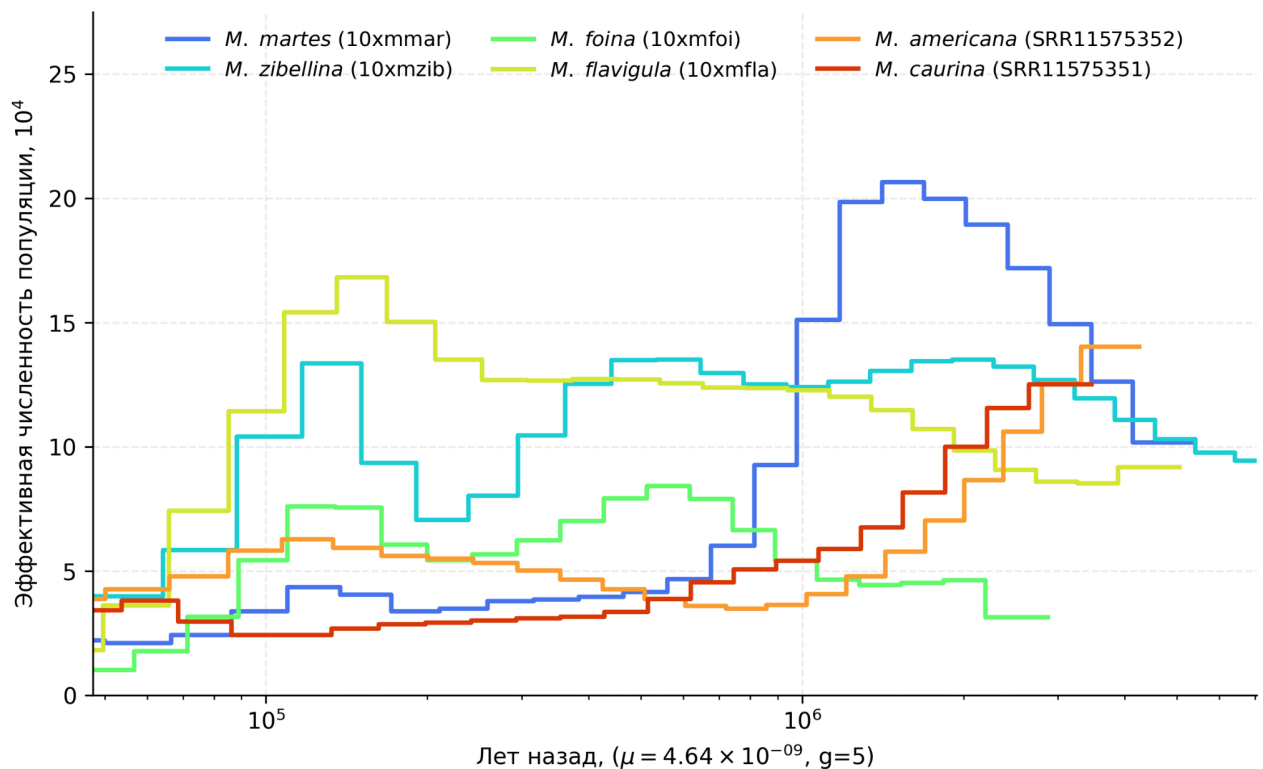
### Реконструкция филогении соболей и лесных куниц на основе мтДНК

На основании 140 полных последовательностей мтДНК соболя и лесной куницы построено филогенетическое дерево. Большинство особей

лесных куниц и гибридов имеют мтДНК из различных монофилитических клад соболя, за исключением 2 образцов лесных куниц (S44 и S46) и 1-го гибрида (T78). Камчатский образец (T72), вероятно, из автохтонной популяции.

### Популяционная история видов рода *Martes*

Соболя демонстрируют три пика  $N_e$   $\sim 2,5$ ,  $\sim 0,5$  и  $\sim 0,1$  млн лет назад. Лесные куницы показывают рост  $N_e$  до максимума  $\sim 1,25$  млн лет назад, за которым следует “бутылочное горлышко”  $\sim 0,7$  млн лет назад (сокращение в 5 раз). Гибриды отличаются разнообразием траекторий и “популяционным взрывом”  $\sim 1,5$  млн лет назад. До 3,5 млн лет назад их траектории совпадали с родительскими видами. Траектория каменной куницы схожа с соболиной (два пика  $N_e$   $\sim 0,55$  и  $\sim 0,15$  млн лет назад), но характеризуется меньшим значением  $N_e$ . Харза демонстрирует рост и не характеризуется сокращениями численности в прошлом. Траектории Североамериканских куниц схожи между собой, отличаясь от траекторий евразийских видов. Для обоих видов наблюдается снижение  $N_e$  до  $\sim 0,8$  млн лет назад. После этого,  $N_e$  американской куницы плавно возрастает, достигая пика  $\sim 125$  тыс лет назад, тогда как траектория тихоокеанской куницы продолжила плавное снижение (Рисунок 3).



**Рисунок 3.** Реконструкция популяционной истории референсных образцов соболя, лесной куницы, каменной куницы, харзы, американской куницы и тихоокеанской куницы.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Геномные сборки и синтения

В работе получены геномные сборки хромосомного уровня для четырех видов *Martes*: соболя, лесной и каменной куницы, а также харзы. Из четырех инверсий подтвержденной оказалась только на хромосоме 11 между соболем и лесной куницей, остальные могут быть артефактами сборок.

### Особенности образцов соболей, лесных куниц и их гибридов

Были секвенированы 14 соболей, 7 лесных куниц и 12 предполагаемых гибридов. После реклассификации получено 13 чистых соболей, 9 лесных куниц и 11 гибридов с интрогрессией >5%. Большинство гибридов (8 из 11) происходят из Тюменской области, один (T18) — из ХМАО, один (T151) — из Новосибирской области, и один (S50) – из Калужской области. Последний показал высокую долю интрогрессии от соболя (16,47%), что может быть либо доказательством исторически бóльшего ареала соболя, либо он может быть одним из потомков соболей, сбежавших со звероферм. Сообщения о расширении ареала соболя подтверждают возможность естественного происхождения.

### Концепция анализа компонентов распределения гетерозиготности

Средние и медианные оценки гетерозиготности искажаются из-за влияния RoH и интрогрессии, поэтому мы предложили новый метод – анализ компонентов распределения гетерозиготности. Для всех образцов удалось выделить компоненты чистых лесных куниц (P), соболей (S) и гибридов (H). После оптимизации метод может применяться как дополнительный тест на гибридное происхождение, если недоступны надежные данные для ADMIXTURE-анализа. Ограничением остается требование наличия окон с существенно различающейся гетерозиготностью; метод неприменим к F1-гибридам, но должен работать для F1-подобных (например, образца T87).

### Гетерозиготность, RoH и интрогрессия соболя и лесной куницы

Первоначальная классификация образцов отличалась от полученной на основании полногеномных данных. Глобальный ADMIXTURE оказался нечувствительным к примеси <7%, тогда как локальный ADMIXTURE выявил интрогрессию, что делает этот подход предпочтительным.

Образцы соболя на графике PCA оказались распределены по вертикали. При этом образцы, собранные от Восточной Якутии до Камчатки (включая образец из Китая), расположены в верхней части графика ( $Y > 0$ ) и их положение коррелирует с долготой. Это вероятно является следствием широкого ареала соболя (более 4700 км с запада на восток), а также его истории и мероприятий по реинтродукции.

Лесная куница оказалась значительно менее гетерозиготной, чем соболь (глобальная медиана 0,64 SNP/тыс п.н. против 1,73 SNP/тыс п.н.;  $p=0,00005$ ). Вероятно, это связано с ограничением возможностей скрещивания вследствие разрушения местообитаний в Европе.

Сравнение RoH показало, что у соболя меньше коротких и длинных RoH, что объясняется смешением с реинтродуцированными особями и подтверждает успешность мероприятий по восстановлению вида. Камчатский образец соболя (T72), кумулятивная траектория распределения RoH которого отличается от других соболей и сходна с траекторией лесных куниц, по всей видимости является представителем автохтонной популяции, которая была меньше подвержена чрезмерному отлову или значительному притоку реинтродуцированных особей. Это дополнительно подтверждается кластеризацией его мтДНК с другими камчатскими образцами. Однако её состояние требует дальнейшего изучения.

### **Гетерозиготность исследуемых видов рода *Martes***

Соболь показал неожиданно высокий уровень гетерозиготности (1,42–2,02 SNP/тыс п.н.), сопоставимый с тайрой (*Eira barbara*). Это можно объяснить реинтродукцией и смешением популяций, несмотря на исторически сильное антропогенное давление из-за ценности меха. Лесная куница имеет заметно более низкую гетерозиготность (0,56–0,67 SNP/тыс п.н.), что, вероятно, является древнюю черту вида, согласно анализу популяционной истории. Ареал, стабильная численность и отсутствие признаков инбредной депрессии позволяет считать её успешным видом, вероятно, вытеснившим вредные аллели из своего пангенома.

Гибриды соболя и лесной куницы демонстрируют повышенную гетерозиготность с мультимодальностью, которая стала следствием гибридизации видов с различным уровнем гетерозиготности. Харза показала гетерозиготность 0,78 SNP/тыс п.н., однако, будучи особью из зоопарка, она не характеризует свободноживущие популяции этого вида. Каменная куница – 0,42 SNP/тыс п.н. с 51,7% генома в RoH, что требует уточнения состояния популяций, по крайней мере, в пределах провинции Ганьсу, Китай.

Выявлены резкие различия между материковыми и островными *M. caurina*: у островных особей гетерозиготность критически низка, что указывает на инбридинг и отсутствие потока генов. На момент написания работы *M. caurina* и *M. americana* МСОП до сих пор считает одним видом (*M. americana*), несмотря на публикации об их генетических и морфологических различиях, что маскирует потенциальные проблемы островных популяций тихоокеанских куниц. При этом, даже в случае внесения *M. caurina* как отдельного вида, его глобальный статус не должен интерпретироваться как

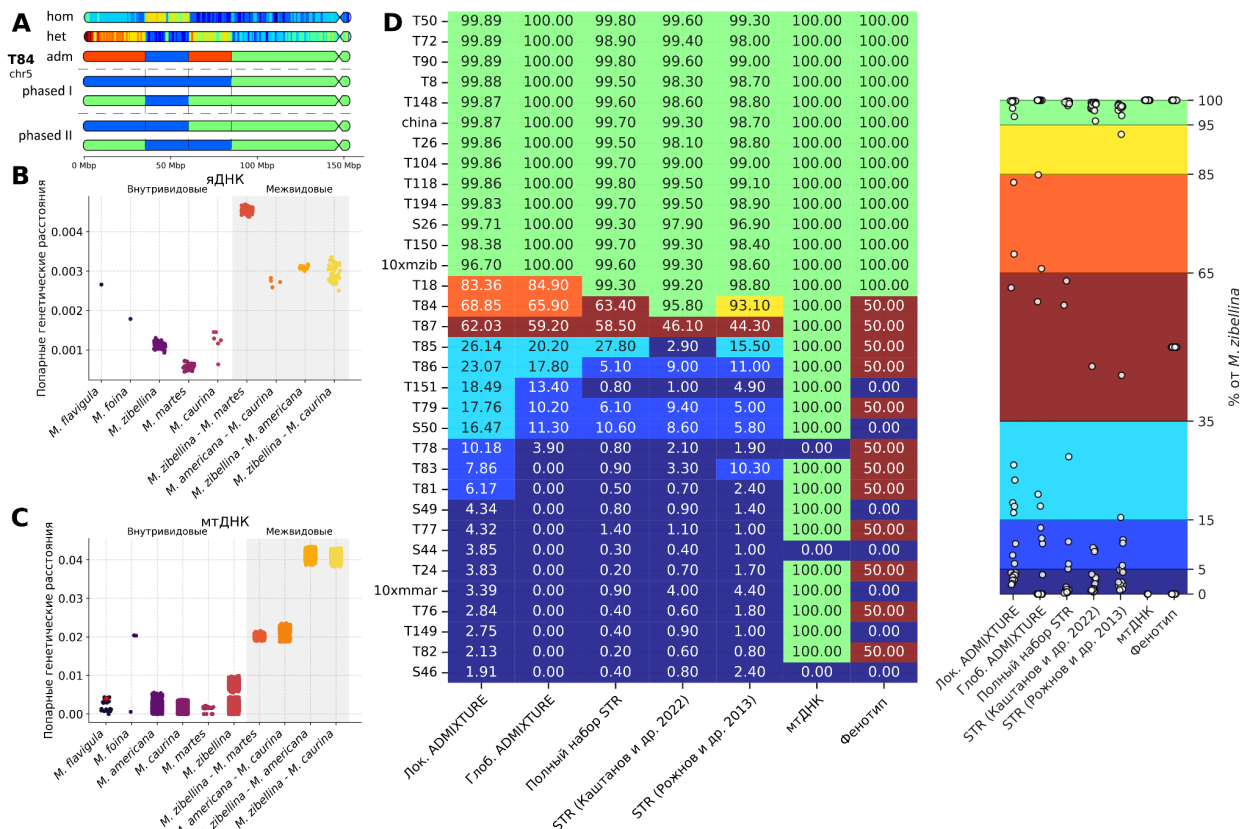
полная и достаточная оценка по той причине, что ситуация между материковыми и островными популяциями значительно отличается. Примечательно, что близкородственная *M. americana*, будучи исключительно материковым видом, не испытывает проблем с гетерозиготностью.

### Кроссинговер и мозаичность хромосом

Локальный ADMIXTURE позволил выявить участки недавней интрогрессии, что проявилось в мозаичности для множества хромосом (Рисунок 4А). Мозаичность проявляется в разных пропорциях и на различных хромосомных участках, что подтверждает неподавленный кроссинговер.

### Противоречия классификации по видовой принадлежности

Сравнение подходов для классификации по видовой принадлежности (локальный и глобальный ADMIXTURE, STR-маркеры, мтДНК) выявило значительные расхождения (Рисунок 4D). Наиболее надёжным оказался локальный ADMIXTURE по полногеномным данным: он показал 11 особей с интрогрессией >5% из 33 проанализированных. STR-маркеры и мтДНК не применимы для точной классификации гибридов, а прежние оценки на их основе требуют пересмотра.



**Рисунок 4.** А – Мозаичная рекомбинантная хромосома 5 образца T84. hom и het – тепловые карты гомозиготных и гетерозиготных SNP, adm – локальный ADMIXTURE (% *M. zibellina*), phased – схемы возможных вариантов

фазирования; В и С – Внутри- и межвидовые генетические расстояния по ядерным (ядНК) (В) и митохондриальным (мтДНК) данным (С); D – Противоречия между классификацией особей на основе различных данных: локальный ADMIXTURE, глобальный ADMIXTURE, все STR-маркеры, STR-маркеры из работ Каштанов и др. 2022 и Рожнов и др. 2013, мтДНК и фенотип (первоначальная классификация).

### **Филогения соболя и лесной куницы на основании мтДНК**

У большинства лесных куниц и гибридов мтДНК соболя из немонофилетичных клад, что указывает на неоднократную интрогрессию. Гаплогруппы A1, B1 и C1 оказались немонофилетичны и были разделены на новые клады (A3-A5, B3-B4, C3-C4). Вероятное объяснение интрогрессии соболиных мтДНК в лесных куниц – межвидовая конкуренция в условиях снежных зим, когда соболь имеет морфологические преимущества и может вытеснять или убивать куниц, особенно самок. В результате мтДНК соболя распространяются на запад, тогда как мтДНК куницы на востоке редки.

### **Харза как отдельный род в подсемействе *Guloninae***

На всех полученных филогенетических деревьях видно, что харза отделилась от остальных видов *Martes* сразу после расхождения с росомхой и отличается длинной ветвью, сопоставимой с ветвями росомхи, ильки и тайры. Учитывая морфологические и кариотипические ( $2n=40$ ) отличия харз от других видов *Martes*, мы поддерживаем идею об их выделении в отдельный самостоятельный род *Charronia*. Генетические расстояния между ядерными геномами харз (Рисунок 4B) сопоставимы с межвидовыми, исходя из чего мы предполагаем, что образец харзы из России стоит отнести к *Ch. (M.) aterrima*, а южно-китайский образец – к *Ch. (M.) flavigula*. Отсутствие подобной картины в случае мтДНК может объясняться интрогрессией. Анализ генетических расстояний между мтДНК (Рисунок 4C) выявил две клады для *M. foina* (Европа и Азия). Генетические расстояния соответствуют межвидовым. Для ядерных геномов расстояния между европейской и азиатской *M. foina* больше внутривидовых, но все же существенно ближе к ним, чем к межвидовым.

### **Популяционная история рода *Martes***

Мы предполагаем восточно-евразийское происхождение рода, раннее расселение в Европу (*M. martes*) и Северную Америку (*M. americana*, *M. caurina*), а также повторные реколонизации ареалов в плейстоцене с последующей гибридизацией. Филогения на основе мтДНК демонстрирует обратный порядок дивергенции видов по сравнению с данным яДНК (вполне вероятно, из-за интрогрессии/позднего генетического обмена). Для разрешения противоречий требуются расширение выборки с равномерным

географическим покрытием и совместный анализ всех видов, вероятно с использованием межвидового пангенома.

### ВЫВОДЫ

1. В геномах комплекса *M. zibellina* × *M. martes* выявлено мультимодальное распределение гетерозиготности, которое является следствием активной гибридизации. Присутствие протяженных участков с низким генетическим разнообразием в геномах соболя свидетельствует о недавнем инбридинге и, вероятно, являются следствием нескольких бутылочных горлышек в конце XIX – начале XX века. Высокая гетерозиготность соболей (~1,7 SNP/тыс п.н.) в настоящее время подтверждает успешность реинтродукции этого вида.
2. Относительно низкая гетерозиготность *M. martes* (~0,7 SNPs/тыс п.н.) имеет древние корни и связана с популяционной историей вида на протяжении последних одного-двух миллионов лет.
3. Интрогрессия, обнаруженная не только в геномах особей из зоны перекрывания ареалов, но и из отдаленных от зоны симпатрии регионах, подтверждает активный двунаправленный поток генов между соболем и лесной куницей, следствием которой является закрепление геномных участков одного вида в геноме другого. Широкий спектр и мозаичность хромосом гибридов подтверждают, что у них не подавлен кроссинговер.
4. Подходы, основанные на методах низкого разрешения (STR, мтДНК, единичные маркеры), непригодны для определения видовой принадлежности как исследуемых, так и других близкородственных видов, между которыми происходит активная интрогрессивная гибридизация с образованием плодовитого потомства. Выявленные противоречия видовой классификации с использованием фенотипических, митохондриальных и ядерных данных говорят о неоднозначности термина "кидас" с генетической точки зрения.
5. Проведенный филогеномный анализ подтверждает необходимость выделения харзы в отдельный род *Charronia* с как минимум тремя видами: *Ch. aterrima*, *Ch. flavigula* и *Ch. gwatkinsii*.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

### Статьи:

1. **Tomarovsky A.A.**, et al. Genomics of sable (*Martes zibellina*) × pine marten (*Martes martes*) hybridization // *Genome Biology and Evolution*. 2026. DOI: 10.1093/gbe/evag018. Q1, IF=3.3
2. **Tomarovsky A.A.**, et al. Novel chromosome-length genome assemblies of three distinct subspecies of pine marten, sable, and yellow-throated marten (genus *Martes*, family Mustelidae) // *Journal of Heredity*. 2025. esaf101. DOI: 10.1093/jhered/esaf101. Q1, IF=2.5
3. **Tomarovsky A.A.**, et al. Chromosome length genome assembly of the stone marten (*Martes foina*, Mustelidae): a new view on one of the cornerstones in carnivore cytogenetics // *Journal of Heredity*. 2025. Vol. 116, № 4. P. 548-557. DOI: 10.1093/jhered/esaf001. Q1, IF=2.5
4. **Томаровский А.А.**, et al. Обзор способов визуализации гетерозиготности в контексте природоохранных исследований // *Экологическая генетика*. 2023. Т. 21. №4. С. 383-400. DOI: 10.17816/ecogen609552. Q4, IF=0.2
5. Derežanin, L., Blažytė, A., Dobrynin, P., Duchêne, D.A., Grau, J.H., Hofreiter, M., Jeon, S., Kliver, S., Koenfli, K.P., Meneghini, D., Preick, M., **Tomarovsky, A.**, et al. Multiple types of genomic variation contribute to adaptive traits in the mustelid subfamily Guloninae // *Molecular Ecology*. 2022. Vol. 31, № 10. P. 2898-2919. DOI: 10.1111/mec.16443. Q1, IF=3.9

### Тезисы конференций:

1. **Tomarovsky A.A.**, et al. Whole-genome data confirm the presence of crossover in hybrids of sable (*M. zibellina*) and pine marten (*M. martes*). 14th International Multiconference Bioinformatics of Genome Regulation and Structure / Systems Biology (BGRSSB-2024). August 5–10, 2024, Novosibirsk, Russia. DOI: 10.18699/bgrs2024-abstracts
2. **Томаровский А.А.**, et al. Оценка уровня гетерозиготности соболя (*Martes zibellina*), лесной куницы (*Martes martes*) и их гибридов. Материалы Международной конференции "Хромосома-2023" Новосибирск, 05-10 сентября 2023 года. DOI: 10.25205/978-5-4437-1514-8
3. **Tomarovsky A.A.**, et al. Assembly and annotation of the sable (*Martes zibellina*) and pine marten (*Martes martes*) genomes. Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB-2021). ISBN: 978-5-901158-32-6 (176).